

EINFLUSS VON DIHYDROERGOTAMIN
AUF DIE SCHUTZWIRKUNG VON TROXERUTIN
AM DURCH POLIDOCANOL GESCHÄDIGTEN
ISOLIERTEN MEERSCHWEINCHENILEUM

Evelyn Bingemann

1982



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548326_0043

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Wolfgang Forth

EINFLUSS VON DIHYDROERGOTAMIN
AUF DIE SCHUTZWIRKUNG VON TROXERUTIN
AM DURCH POLIDOCANOL GESCHÄDIGTEN
ISOLIERTEN MEERSCHWEINCHENILEUM

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Evelyn Bingemann

aus

München

1982

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Wolfgang Felix
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Wolfgang Forth
Dekan: Prof. Dr. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 9. März 1982



INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1.	EINLEITUNG	1
2.	MATERIAL UND METHODE	6
2.1	Versuchstiere und Präparation	6
2.2	Versuchsapparatur	8
2.3	Nährlösung	8
2.4	Versuchsbedingungen	9
2.4.1	Leerversuche	9
2.4.2	Kontrollversuche	10
2.4.3	Verumversuche	10
2.5	Versuchsablauf	11
2.6	Auswertung	14
2.7	Verwendete Pharmaka	16
2.7.1	Kontraktionsauslösende Substanz	16
2.7.2	Schädigende Substanz	17
2.7.3	Protektive Substanzen	17
3.	DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE	19
3.1	Anzahl der Versuche	19
3.2	Leerversuche	19
3.3	Kontrollversuche	20
3.4	Verumversuche	21
3.4.1	Ergebnisse der Versuche mit Troxerutin	22
3.4.2	Ergebnisse der Versuche mit DHE	25
3.4.3	Ergebnisse der Versuche mit Troxerutin und DHE in Kombination	28
3.5	Vergleich der Ergebnisse Troxerutin einzeln und in Kombination mit DHE	33

4.	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	37
5.	ZUSAMMENFASSUNG	43
6.	LITERATUR	44

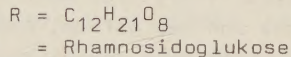
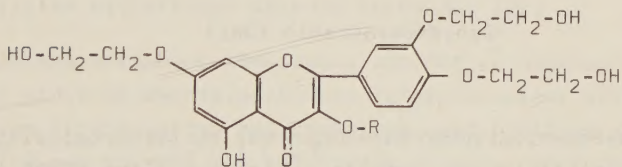
1. EINLEITUNG

Flavonoide haben sich lange in der Therapie von venösen Erkrankungen bewährt. Weniger die natürlichen als ihre halbsynthetischen Umwandlungsprodukte zeigen die bekannte kapillarschützende und -abdichtende Wirkung.

Trihydroxyaethylrutosid (Freiname Troxerutin) ist eines davon und wirkt ähnlich wie das Gemisch von mono-, di-, tri- und tetra-hydroxyaethylierten Rutosiden (HR).

Troxerutin ist das halbsynthetische Produkt von Rutin, einem Bioflavonoid, dessen pharmakologische Wirkung unumstritten ist. Rutin ist das Rhamnosid von Quercetin, das ein Pentahydroxyflavon darstellt. Troxerutin entsteht durch Hydroxyaethylierung von drei der vier phenolischen Gruppen des Rutins, was seine Wasserlöslichkeit um ein Vielfaches erhöht.

Tri-O-hydroxyaethyl-7,3',4'-rutosid

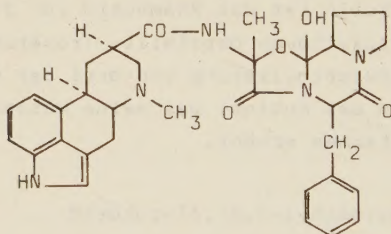


Bestandteil der ödemprotektiven Wirkung von Hydroxyaethylrutosiden ist eine allgemeine Schutzwirkung (FELIX, 1978; BIESENDORFER, 1980; HAMMERSEN, 1978). Damit ergibt sich

die Möglichkeit, diesen protektiven Effekt nicht nur am Gefäßsystem (Kapillarendothel), sondern auch an der glatten Muskulatur zu erproben.

Bei der Therapie von Venenerkrankungen hat sich auch aufgrund seines venenkonstringierenden Effektes Dihydroergotamin bewährt. Es liegt also nahe, beide Substanzen kombiniert anzuwenden.

DHE entsteht durch Hydrierung des Lysergsäurerestes von Ergotamin, einem Mutterkornalkaloid.



Dihydroergotamin (DHE)

Die pharmakologischen Wirkungen der Mutterkornalkaloide sind vielfältig und komplex (Literatur siehe BERDE und SCHILD, 1978). Ergotamin erregt die glatte Muskulatur des Uterus und der Gefäße. Andere Organe mit glatter Muskulatur (wie Darm, Bronchien, etc.) werden kaum beeinflusst. Die hervortretenden Wirkungen von Ergotamin auf das kardiovaskuläre System sind durch gleichzeitig ablaufende periphere Vasoconstriction, Unterdrückung des Vasomotorienzentrums und peripherer adrenerger Blockade bedingt.

Durch Dihydrierung der nativen Secale-Alkaloide tritt die muskuläre Eigenwirkung gegenüber der Sympatholyse zurück. Nach dem derzeitigen Stand der Forschung kann geschlossen werden, daß DHE einen bevorzugten und starken konstringierenden Effekt auf die Kapazitätsgefäße in Haut und Skelettmuskulatur besitzt ohne dabei die Widerstandsgefäße oder die präkapillären Sphincter zu beeinflussen (MELLANDER und NORDENFELT, 1970).

MANZ (1981) fand bei seinen Untersuchungen am denervierten Hinterlauf der Katze, daß intraarterielle Infusionen von DHE (4 ug/min x 100 g Gewebe) zu einer mittleren Venentonisierung von 15 % führten.

Testungen an der hinteren Extremität der Katze (FELIX, unveröffentlichte Versuche) hatten ergeben, daß DHE die ödemprotektive Wirkung von Troxerutin beeinträchtigt, so daß die Frage entstand, ob neben der venentonisierenden Wirkung des DHE noch eine andere, die Gefäßpermeabilität betreffende Wirkung vorhanden ist.

Um die spezifische Gefäßwirkung von DHE zu umgehen und damit störende Wechselwirkungen aufgrund seiner vasoaktiven Eigenschaften auszuschalten, und trotzdem den Einfluß von DHE auf die schützende Wirkung von Troxerutin feststellen zu können, wurden die Untersuchungen an der glatten Muskulatur des Darmes durchgeführt, wo DHE keine konstringierende Wirkung zeigt. Nach MÜLLER-SCHWEINITZER und WEIDMANN (1978) wurden die Rezeptoren für Acetylcholin weder blockiert noch stimuliert.

Die Verwendung von Darm hatte zusätzlich den Vorteil, technisch weniger aufwendig und wesentlich ökonomischer zu sein als bei Verwendung von Venenpräparaten, weil relativ weniger Versuchstiere benötigt wurden.

Im folgenden soll das Prinzip der vorliegenden Untersuchung kurz erläutert werden:

Isolierte, funktionsfähige Ileumabschnitte von Meer-schweinchen wurden in ihrer Reaktion auf unterschied-liche Bedingungen untersucht. Aussagen darüber wurden über eine Änderung der Kontraktilität der Muskelpräpa-rate erwartet. Die Kontraktilität wurde mit Acetylcholin geprüft. Die experimentell reproduzierbaren Kontraktio-nen wurden durch zwei Gruppen von Pharmaka beeinflusst:

- eine schädigende Substanz, die die Kontraktilitätskraft der Darmabschnitte herabsetzte und
- zwei hypothetisch schützende Substanzen, die in ihrem Einfluß auf die Kontraktilitätskraft der geschädigten Darmabschnitte untersucht werden sollten. Sie wurden einzeln und in Kombination appliziert.

Die schädigende Substanz war nicht Untersuchungsgegen-stand. Ihre Wirkung wurde als Vergleichsgröße (Kontrol-le) herangezogen. Polidocanol wurde gewählt, weil hier-bei die Schädigung nicht total, sondern teilweise re-versibel ist.

Polidocanol - chemisch Hydroxypolyaethoxydodecan - ist eine oberflächenaktive Substanz, die als Sklerosierungs-mittel zur Verödung von Varizen angewandt wird, wobei es nur in vorgeschädigtem Gewebe (varikös veränderte Venen) zu Sklerosierung führen soll.

Der vorliegenden Untersuchung liegen Erkenntnisse der Dissertationsarbeit von EICHLER (1981) zugrunde, der die Wirkung von Polidocanol auf isolierte Gefäßstreifen der Ratte untersuchte. Nach EICHLER wird die kontrak-tionshemmende Wirkung des Polidocanol nicht durch eine

Blockierung der Rezeptoren erreicht, sondern durch eine unspezifische Schädigung der kontraktile Strukturen der Gefäße verursacht.

Die zweite Gruppe von Pharmaka wurde auf ihre protektive Potenz gegenüber dem Ausmaß der Schädigung hin überprüft sowie in ihrer Auswirkung auf die Erholungsphase. Die Darmabschnitte wurden dabei vor der Schädigung mit Troxerutin, DHE oder beiden Substanzen gemeinsam vorbehandelt.

2. MATERIAL UND METHODE

2.1 Versuchstiere und Präparation

Als Versuchstiere dienten männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht von durchschnittlich 500 Gramm. Einen Tag vor dem Exitus erhielten sie keine Nahrung mehr.

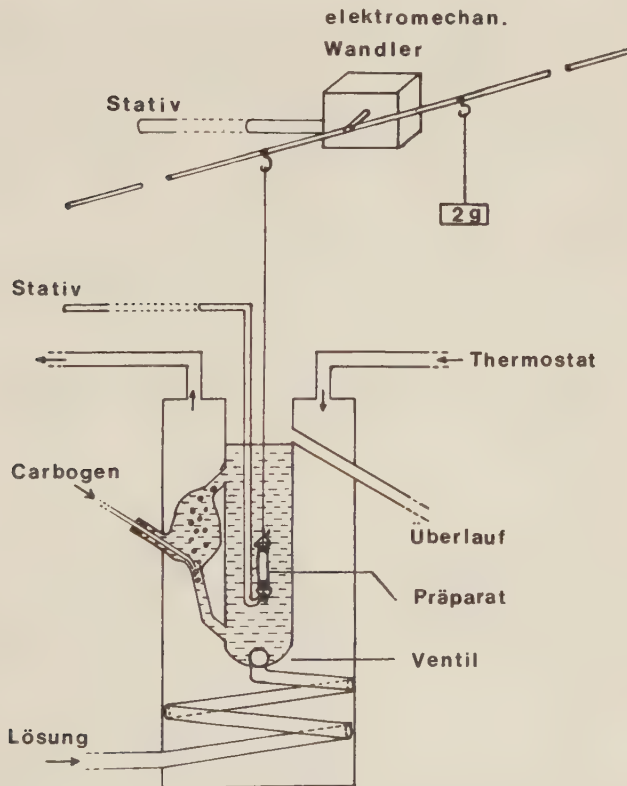
Die Meerschweinchen wurden durch Genickschlag getötet und sofort laparotomiert. Die Präparation erfolgte unter weitgehend antiseptischen Kautelen. Das Ileum wurde schonend vom Mesenterium abpräpariert, in seiner ganzen Länge entnommen und sofort in die bereitstehende angewärmte Nährlösung (siehe 2.3) gegeben. Jeweils etwa zehn Zentimeter des proximalen und distalen Endes des Ileums wurden verworfen. Der Darminhalt wurde, sofern noch vorhanden, mit warmer Nährlösung vorsichtig herausgespült.

Angefangen vom distalen Ende des Darmes wurden zwanzig bis dreißig Millimeter lange Segmente abgeschnitten. Die beiden Enden dieser kurzen Darmabschnitte wurden auf eigens angefertigte kurze Plastikröhrchen gezogen und mit Nähseide daran befestigt. Die Plastikzylinder entsprachen im Durchmesser etwa dem Darmlumen und waren hohl, so daß die Nährlösung sowie die zugesetzten Substanzen nicht nur von außen, sondern auch von innen an das Präparat gelangen konnten. An den Plastikzylindern waren Ösen angebracht, mit deren Hilfe die Darmsegmente dann in die Versuchsanordnung eingehängt werden konnten (siehe auch Abbildung 1).

In der Regel wurden vierzehn Darmabschnitte auf die Zylinder aufgezogen, entsprechend der Anzahl der vorhandenen Apparaturen. Der restliche Darm wurde häufig

noch vollständig benötigt, um reaktionslose oder mangelhafte Abschnitte auszutauschen.

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Versuchsaapparatur zur isotonen Messung der Kontraktionen von isolierten Organen



2.2 Versuchsanordnung

Die Darmabschnitte waren im Organbad am unteren Ende über die Ösen an den Plastikzylindern an einem Metallstab (Stativ) fixiert und am anderen Ende frei schwebend an einem Hebelarm aufgehängt. Am anderen Ende des Hebels waren sie mit 2 g-Gewichten belastet.

Die Längenänderungen des Darmsegmentes wurden isoton gemessen und fortlaufend registriert, und zwar folgendermaßen: An beiden Seiten der Achse trug der Hebel je eine Blende, welche dahinterliegende Photowiderstände, die von einer Lichtquelle beleuchtet wurden, teilweise abdeckte. Eine Auslenkung des Hebels bewirkte, daß der eine Widerstand zunehmend verdeckt, der andere zunehmend freigegeben wurde. Beide Widerstände waren derart in eine Gleichstrombrücke (Filbig KG) eingeschaltet, daß der Schreiber (Abimed GmbH) Verkürzungen und Erschlaffungen des Präparates linear anzeigte.

Es konnten immer vierzehn Kurven gleichzeitig aufgezeichnet werden.

2.3 Nährlösung

Das Organbad, in dem die isolierten Ileumsegmente hingen, bestand aus einer Nährlösung, die vor jedem Versuch frisch angesetzt wurde und sich folgendermaßen zusammensetzte:

NaCl	118,3 mM	KH_2PO_4	1,19 mM
KCl	4,75 mM	NaHCO_3	12,5 mM
CaCl_2	2,6 mM	Glukose	11,1 mM
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	1,2 mM		

Dieser Standard-Krebs-Lösung, die sich bei Arbeiten an isolierten Meerschweinchendärmen bewährt hatte (KROMER et al., 1980), wurde noch 1 mMol/l Pyruvat zugegeben. In Vorversuchen hatte sich nämlich gezeigt, daß bei Zusatz von Pyruvat die aufgezeichneten Kurven der durch Acetylcholin ausgelösten Kontraktionen weniger rasch abfielen, was die Ausmessung der Kurven etwas erleichterte.

Im Organbad wurde die Nährlösung durch einen Thermostaten über ein umgebendes Wasserbad konstant auf 37° C gehalten. Der pH der Lösung wurde regelmäßig geprüft und lag etwa bei 7,4. Im Übrigen wurde das Organbad mit Carbogengas (95 % O₂ und 5 % CO₂) ständig leicht durchperlt.

2.4 Versuchsbedingungen

Entsprechend der Anzahl an Versuchsvorrichtungen wurden mit jedem Darm eines Tieres vierzehn Versuche gleichzeitig durchgeführt. Die vierzehn Versuche gliederten sich in

- 1 - 2 Leerversuche,
- 1 - 2 Kontrollversuche,
- 10 - 12 Verumversuche.

Die Bedingungen, unter denen die einzelnen Darmabschnitte untersucht wurden, sollen im folgenden näher erläutert werden.

2.4.1 Leerversuche

Die Leerversuche dienten dazu, eine Aussage über den Zustand des jeweiligen Darmes zu machen. Diese Darmabschnitte wurden ohne pharmakologische Beeinflussung

gelassen. Sie erhielten lediglich zum selben Zeitpunkt wie die anderen die gleichen Mengen Acetylcholin, um immer wieder feststellen zu können, daß ihre Funktionsfähigkeit gegeben ist und nicht durch irgendwelche im Darm selbst gelegenen Ursachen beeinträchtigt ist.

2.4.2 Kontrollversuche

Die Kontrollgruppen wurden wie die Verumgruppen immer mit der gleichen Konzentration Polidocanol inkubiert. Sie erhielten jedoch im Gegensatz zu diesen vorher keine der protektiven Substanzen.

2.4.3 Verumversuche

Bei den Verumversuchen wurde die Reaktion der zehn bis zwölf Darmabschnitte eines Tieres mit verschiedenen Konzentrationen der protektiven Substanz(en) geprüft. Immer zwei Darmabschnitte liefen unter den gleichen Versuchsbedingungen, das heißt der gleichen Konzentration der protektiven Substanz(en). Die Verwendung von zwei anstatt einem Darmsegment hatte einmal den Vorteil, daß eventuelle Unterschiede in den Darmsegmenten ausgeglichen werden konnten und zum anderen, daß bei Ausfall eines Organs der Versuch nicht verloren war.

Darüberhinaus sind die Unterschiede, die sich in den Ergebnissen der angewendeten Konzentrationen ergeben, dadurch verbindlicher und aussagekräftiger, daß sie an mehreren Tieren geprüft wurden. Hätte man einen anderen Modus gewählt und wäre etwa eine Konzentration an den vierzehn Abschnitten gleichzeitig überprüft worden, hätte man theoretisch auch ein "n" von vierzehn auszählen können. Das unterschiedliche Reaktionsverhalten

der einzelnen Därme wäre aber verfälschend in die Ergebnisse eingegangen beziehungsweise hätte unterschiedliche Reaktionen auf die einzelnen Konzentrationen vortäuschen können.

2.5 Versuchsablauf

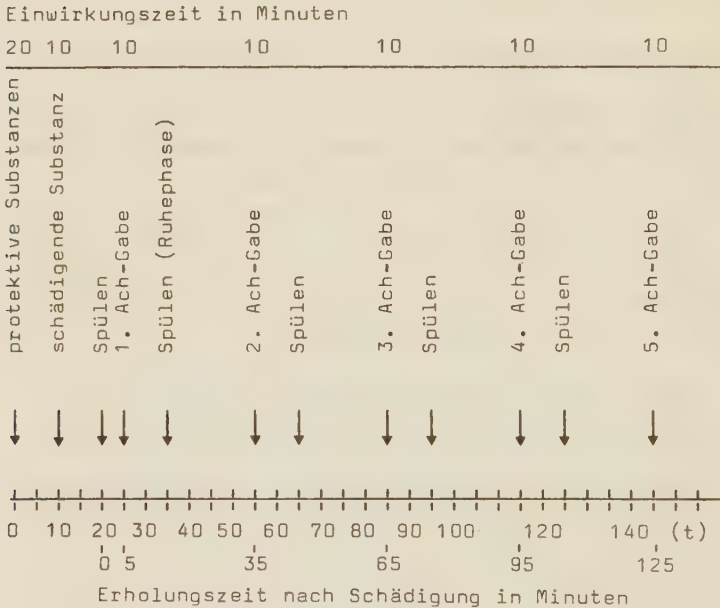
Nach dem Einhängen der Präparate in das Organbad mit frischer warmer Nährlösung wurde eine gewisse Zeit zum Eingewöhnen an das neue Milieu eingehalten.

Mit Acetylcholin wurde geprüft, ob die einzelnen Organe Kontraktionen in meßbarer Größe produzierten. Wenn dies nicht der Fall war, wurden sie gegen andere Abschnitte aus dem gleichen Darm ausgetauscht.

In dieser Versuchsvorbereitungsphase wurde über den Schreiber der Ruhewert, der dem Grundtonus des Muskelpräparates entsprach, eingestellt und die zu Vergleichszwecken benötigte Ausgangskontraktion auf Acetylcholin ermittelt. Das einzelne Organ wurde für das Experiment bereiterklärt, wenn mindestens zwei Kontraktionen, die durch die jeweils gleiche Menge von Acetylcholin hervorgerufen waren, in etwa gleicher Stärke ausfielen. Dies war im Durchschnitt eine Dreiviertel Stunde nach Einhängen der Präparate ins Organbad der Fall. In dieser Zeit wurde immer wieder frische Nährlösung in die Organbäder nachgefüllt und noch einmal unmittelbar vor Beginn des Experiments gespült.

Für die sich anschließende eigentliche Versuchsphase gab es einen genauen Zeitplan, der immer eingehalten wurde (siehe Abbildung 2).

Abbildung 2: Standardisierter schematischer Versuchsab-
lauf nach abgeschlossener Versuchsvorbe-
reitungsphase
(Ausgangskontraktion bereits ermittelt)



Es wurde immer mit der Gabe der hypothetisch protektiven Substanz (Trolox beziehungsweise Dihydroergotamin oder beide gleichzeitig) begonnen. Da die Bäder unterschiedliche Volumina aufwiesen, waren die Mengen ebenfalls unterschiedlich. Die Endkonzentration der Organbadlösung entsprach jedoch in jedem Fall der im einzelnen unter Punkt 2.7 angegebenen. Die vorher errechneten Mengen wurden mit Eppendorf-Pipetten ins Bad gegeben.

Nach einer Einwirkungszeit von zehn Minuten wurde ohne vorheriges Ausspülen der protektiven Substanzen Polidocanol mit einer Endkonzentration von 0,0015 % zugesetzt und ebenfalls zehn Minuten im Bad belassen.

Das bedeutet, daß die protektiven Substanzen zweimal zehn Minuten auf das Organpräparat einwirken konnten, wobei während der zweiten zehn Minuten die schädigende Substanz noch zusätzlich einwirkte.

Danach wurde gründlich mit frischer Nährlösung gespült, das heißt alle Substanzen wurden ausgewaschen.

Fünf Minuten nach beendigter Schädigung wurde zum ersten Mal Acetylcholin ins Organbad gegeben, zehn Minuten dort belassen und dann wieder ausgespült. Zwanzig Minuten später wurde das zweite Mal Acetylcholin zugegeben und wiederum zehn Minuten dort belassen. Dieser Vorgang wurde fünfmal wiederholt. Daraus ergeben sich die Messungen der durch Acetylcholin hervorgerufenen Kontraktionen 5, 35, 65, 95 und 125 Minuten nach beendigter Schädigung.

Die Gesamtdauer der eigentlichen Versuchsphase (Versuchsvorbereitungsphase nicht mitgerechnet) betrug zweieinhalb Stunden. Die Messungen wurden zeitlich nicht weiter ausgedehnt, weil von einer Ermüdung der Präparate ausgegangen werden mußte, die die Ergebnisse verfälscht hätte. Wie später noch gezeigt wird, bestand zwischen der Höhe der Kontraktionen nach 125 Minuten Erholungszeit gegenüber denen nach 95 Minuten meist kein nennenswerter Unterschied.

2.6 Auswertung

Während der gesamten Versuchsdauer wurden die Längenänderungen der einzelnen Organe vom vorher geeichten Schreiber mit einem Papiervorschub von 1 cm/min. aufgezeichnet.

Abbildung 3 (nächste Seite) gibt einen Originalkurvenverlauf wieder und erklärt die Grundlagen der Auswertung.

Die Auslenkungen vom Ruhewert wurden von Hand ausgemessen und in Millimeter in eine Tabelle eingetragen. Diese Papierwerte wurden dann in einen Computer eingegeben und entsprechend der Organlänge und der Eichung des Gerätes auf die tatsächliche Längenänderung umgerechnet. Die Länge der Ileumsegmente wurde jeweils am Ende eines Experiments in Ruhestellung gemessen.

Die Bearbeitung der Meßwerte erfolgte durch einen Commodore-Computer CBM 8032.

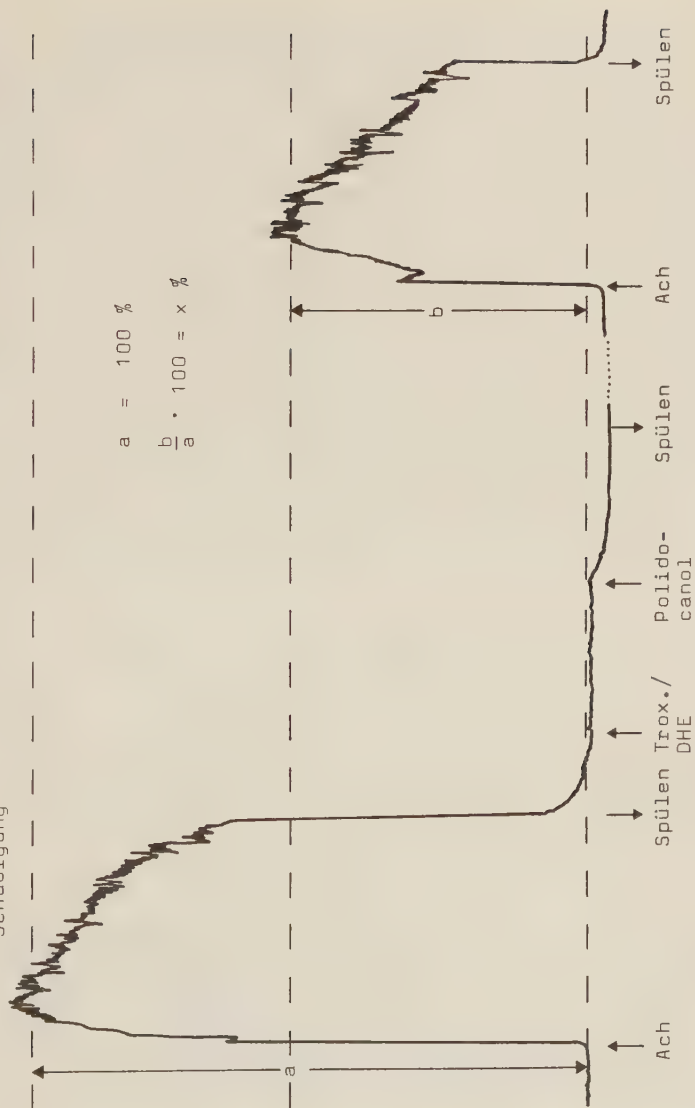
Die Kontraktion vor Behandlung und Schädigung wurde gleich 100 % gesetzt. Diese Ausgangskontraktion stellte die Bezugsgröße dar, an der alle folgenden Kontraktionen gemessen wurden. Als Maßstab der Schädigung beziehungsweise des Schutzes vor Schädigung wurde die Abweichung von dieser Ausgangskontraktion gewertet.

In der Regel liefen zwei Darmabschnitte eines Tieres unter den gleichen Versuchsbedingungen, das heißt mit den gleichen Konzentrationen an Testsubstanz. Die Ergebnisse dieser zwei wurden gemittelt und dann wie ein Versuch ($n = 1$) behandelt. Mit Hilfe eines "Hewlett Packard 97" wurden diese für ein Tier erhaltenen Prozentwerte dann gemittelt und der jeweilige standard error errechnet.

Abbildung 3: Auswertung einer Originalkurve.

Dargestellt sind Ausgangskontraktion und dritte Kontraktion nach

Schädigung



Die Werte der Kontrollversuche wurden ebenfalls pro Tier vorgemittelt, dann zusammengezählt und entsprechend der Anzahl Tiere (nicht der Darmabschnitte) gemittelt sowie der standard error errechnet.

Bei den Kombinationsversuchen wurde zusätzlich noch der Vergleich der gefundenen Werte zur Ermittlung vorhandener Signifikanzen durch "Prüfung der Gleichheit zweier verbundener Varianzen" mit dem "gepaarten t-Test" nach Student durchgeführt. Dabei wurden die gemittelten Prozentwerte der Kontrollversuche eines Tieres von den gemittelten Prozentwerten der einzelnen Verumversuche desselben Tieres abgezogen und dann gemittelt. Es ergab sich für jede Messung ein $\Delta\%$ -Wert, der eine konkrete Aussage über den tatsächlichen Unterschied zwischen der jeweiligen Kontroll- und Verumgruppe ermöglicht.

2.7 Verwendete Pharmaka

2.7.1 Kontraktionsauslösende Substanz

Acetylcholin

Angewandt in einer Konzentration von 1×10^{-7} M

Verwendung von Acetylcholinum ophthalmicum Dispersa
(zur Vorderkammerspülung)

DISPERSA BAESCHLIN GmbH

Eine Molarität von 1×10^{-7} im Organbad wurde gewählt, weil bei dieser Konzentration 60 - 80 % der maximal möglichen Kontraktion erreicht wird (SCHUSTER, 1978). Maximale Kontraktionen sind nicht erwünscht, wenn eine Änderung der Kontraktionsfähigkeit beobachtet werden soll.

2.7.2 Schädigende Substanz

Polidocanol

Angewandt in einer Konzentration von 0,0015 %.

Verwendung von Aethoxysklerol ^R 3 %

KREUSSLER

(Injektionslösung zur Varizenverödung)

30 ml Injektionsflasche enthält:

Hydroxypolyaethoxydodecan 3,0 g

Äthanol abs. 3,0 ml

Aqua pro injectione ad 100,0 ml

Die Konzentration von 0,0015 % im Organbad wurde gewählt, weil EICHLER (1981) gezeigt hat, daß in dieser Konzentration die Schädigung nicht total, sondern teilweise reversibel ist.

Polidocanol liegt in einem Gemisch niedrig- und hochmolekularer Substanzen vor, so daß die Molarität nicht angegeben werden kann.

2.7.3 Protektive Substanzen

Troloxerutin

Angewandt in Konzentrationen von $1,3 \times 10^{-3}$ M, $6,5 \times 10^{-4}$ M, $1,3 \times 10^{-4}$ M, $6,5 \times 10^{-5}$ M, $1,3 \times 10^{-5}$ M.

Verwendung von Troloxerutin Ampullen 500 mg/5 ml

MERCK

Dihydroergotamin

Angewandt in Konzentration von 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M, 1×10^{-7} M und 1×10^{-8} M.

Verwendung von Dihydroergot ^R SANDOZ AG

Ampullen zu 1 ml Injektionslösung mit

1 mg Dihydroergotaminmethansulfonat

oder Dihydroergotaminmethansulfonat ungelöst

Troxeutin und Dihydroergotamin in Kombination

Angewandt in Konzentrationen von

Troxeutin	$6,5 \times 10^{-4}$ M	+	DHE	1×10^{-5} M
"	"	+	"	1×10^{-6} M
"	"	+	"	1×10^{-7} M
"	$1,3 \times 10^{-4}$ M	+	"	1×10^{-5} M
"	"	+	"	1×10^{-6} M
"	"	+	"	1×10^{-7} M
"	$6,5 \times 10^{-5}$ M	+	"	1×10^{-5} M
"	"	+	"	1×10^{-6} M
"	"	+	"	1×10^{-7} M

3. DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

3.1 Anzahl der Versuche

Insgesamt wurden 35 Versuchstiere benötigt. Die ersten drei dienten den Vorversuchen zum Austesten der modifizierten Nährlösung und der Einarbeitung des Laborteams, so daß nur 32 Versuchstiere in die Auswertung gelangten. Leerverversuche wurden nicht mitgezählt. Bei den Kontrollen hat es mehrere Ausfälle gegeben.

Die einzelnen Konzentrationen von Troxerutin, DHE und der Kombination wurde an der etwa doppelten Anzahl von Organen geprüft als hier in den Ergebnissen erscheint, nachdem gleichlautende Versuche an einem Versuchstier als ein Versuch ($n = 1$) gewertet wurde.

Daraus ergibt sich die Anzahl von insgesamt 157 ausgewerteten Versuchen, die sich im einzelnen folgendermaßen verteilen:

Troxerutin (in 5 Konzentrationen)	$n = 31$
DHE (in 5 Konzentrationen)	$n = 24$
Troxerutin und DHE gemeinsam (in 9 Kombinationskonzentrationen)	$n = 77$
Kontrollen	$n = 25$

3.2 Leerverversuche

Bei diesen Versuchen sollte sich zeigen, ob die einzelnen Därme an sich funktionsfähig waren oder ob sie im Laufe der Versuchsdauer in ihrer Kontraktionskraft nachließen. Dies war nicht der Fall. Die Darmabschnitte kontrahierten sich zwar bei der ersten Messung der Hauptversuchsphase durchschnittlich um 30 % weniger als bei der Ausgangs-

kontraktion, (wobei diese Präparate wohlgemerkt nicht experimentell geschädigt wurden), ließen aber im weiteren Verlauf keine nennenswerte Ermüdung erkennen. Es ist anzunehmen, daß diese allgemeine Hemmung der Kontraktionskraft zu Beginn des Versuchs durch die Präparation und die Herausnahme der Organe aus ihrem natürlichen Milieu bedingt ist.

Das bedeutet, daß ein Teil der Schädigung nicht auf das Polidocanol zurückgeführt werden kann. Nachdem dieses Phänomen aber alle Organe betrifft, braucht dieser Parameter nicht in der Auswertung berücksichtigt zu werden.

3.3 Kontrollversuche

Allgemein kann gesagt werden, daß sich auch die Organe, die nur geschädigt wurden, im Laufe der Versuchsdauer zunehmend erholten, das heißt die Schädigung war in gewissem Maß reversibel.

Bei der ersten Messung konnten insgesamt keine Kontraktionen aufgezeichnet werden. Der Grundtonus sank stark ab, was zu einem Wert von knapp zehn Prozent unterhalb des Ruhewertes führte. Innerhalb der nächsten halben Stunde erholten sich die Organe bereits so weit, daß sie ihre Kontraktionsleistung um dreißig Prozent steigern konnten. Nach einer weiteren Stunde wurden von diesen unbehandelten Organen fünfzig Prozent der Ausgangskontraktion vor Schädigung erreicht. Die letzte Messung ergab dann nur noch eine Steigerung von weiteren fünf Prozent.

Die genauen Prozentzahlen sind in Tabelle 3 unter Punkt 3.4.3 aufgeführt. In Abbildung 6 sind die errechneten Mittelwerte für alle Kontrollversuche im Vergleich mit den Kombinationsversuchen dargestellt.

Im einzelnen wird bei den Verumversuchen noch auf die Kontrollwerte eingegangen, und zwar werden die Ergebnisse der mit Troxerutin vorbehandelten Organe mit den zu diesen Versuchen gleichzeitig durchgeführten Kontrollen verglichen (Abbildung 4) und die DHE-Versuche mit den entsprechenden dazugehörigen Kontrollen gezeigt (siehe Abbildung 5).

Bei den Versuchen mit kombinierter Vorbehandlung (Troxerutin und DHE gemeinsam) wurden die Ergebnisse auch mit dem gepaarten t-Test überprüft. Dabei gehen die einzelnen Kontrollwerte eines Versuches direkt in die Auswertung der Verumversuche mit ein. Dabei reduzierte sich die Streuung wesentlich und es konnten signifikante Unterschiede bei zwei Kombinationskonzentrationen gefunden werden (siehe Abbildung 7 unter Punkt 3.4.3).

3.4 Verumversuche

Für alle Versuche gilt, daß kurz nach der Schädigung mit Polidocanol keine Kontraktion der Darmsegmente auf Acetylcholin-Zugabe erfolgte beziehungsweise der Grundtonus sogar absank, was zu negativen Werten führte. Im Laufe der Zeit ist in allen Fällen eine mehr oder weniger starke Erholung zu beobachten, die bei den mit den protektiven Substanzen vorbehandelten Organen in den allermeisten Fällen deutlich stärker ausfiel als bei den unbehandelten Kontrollorganen.

3.4.1 Ergebnisse der Versuche mit Troxerutin

Die protektive Wirkung von Troxerutin gegenüber der schädigenden Substanz wurde in Konzentrationen von $1,3 \times 10^{-3}$ M, $6,5 \times 10^{-4}$ M, $1,3 \times 10^{-4}$ M, $6,5 \times 10^{-5}$ M und $1,3 \times 10^{-5}$ M getestet.

Bei vier der fünf angewandten Konzentrationen von Troxerutin konnte eine Hemmung der Schädigung festgestellt werden, das heißt die mit Troxerutin vorbehandelten Organe zeigten nach der Schädigung stärkere Kontraktionen als die gleichzeitig untersuchten Kontrollorgane, denen kein Troxerutin verabreicht worden war.

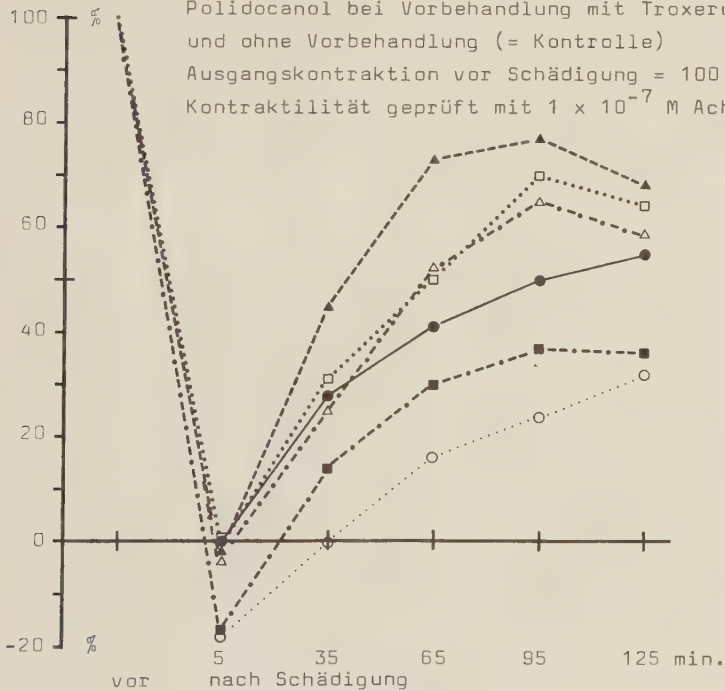
Abbildung 4 stellt die Ergebnisse aller Versuche mit Troxerutin grafisch dar. Die Zahlenwerte sind Tabelle 1 zu entnehmen.

Die niedrigste Troxerutin-Dosis ($1,3 \times 10^{-5}$ M) war nicht in der Lage, das Ergebnis gegenüber der Kontrolle zu verbessern. Unmittelbar nach der Schädigung war der Grundtonus so weit abgesunken, daß sich erst nach einer Stunde Erholungszeit meßbare Kontraktionen von durchschnittlich 16,5 % der Ausgangskontraktion ergaben.

Alle übrigen Troxerutin-Konzentrationen zeigten deutliche Unterschiede zur Kontrollgruppe. Bei der ersten Messung fünf Minuten nach beendeter Schädigung zeigten die vier Verumgruppen um durchschnittlich ungefähr 15 % bessere Ergebnisse, weil der Grundtonus nicht oder nur geringfügig abgesunken war. Die Organe erholten sich auch sehr viel rascher von der Schädigung. Bei der zweiten Messung erzielten diejenigen, die mit $6,5 \times 10^{-5}$ M inkubiert worden waren, bereits durchschnittlich 45 %

der Ausgangskontraktion (gegenüber 14 % bei der Kontrollgruppe) und konnten ihre Leistung bis auf 77 % steigern (Kontrolle 37 %). Die höchsten Werte wurden allgemein nach 95 Minuten gemessen. Lediglich die Konzentration von $1,3 \times 10^{-4}$ M erreichte nach 125 Minuten noch eine Steigerung.

Abbildung 4: Vergleich der Kontraktilität von isolierten Darmabschnitten nach Schädigung mit 0,0015 % Polidocanol bei Vorbehandlung mit Troxerutin und ohne Vorbehandlung (= Kontrolle) Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 % Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-7} M Ach



Legende: Trox $1,3 \times 10^{-3}$ M□..... n = 7
 $6,5 \times 10^{-4}$ M△..... n = 6
 $1,3 \times 10^{-4}$ M●..... n = 7
 $6,5 \times 10^{-5}$ M▲..... n = 6
 $1,3 \times 10^{-5}$ M○..... n = 5
 Kontrolle■..... n = 12

Tabelle 1: Einfluß von Troxerutin auf die Schädigung
 durch Polidocanol 0,0015 %
 Kontraktilität geprüft durch Ach 1×10^{-7} M
 Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
 n = Anzahl der Versuche
 $\bar{x}$ = Mittelwerte in % der Ausgangskontraktion
 SE = standard error

Troxerutin			Minuten nach beendeter Schädigung				
Molarität	n		5	35	65	95	125
$1,3 \times 10^{-3}$	7	$\bar{x}$	1,05	31,10	50,69	69,74	64,40
		SE	10,18	13,74	14,50	18,72	17,34
$6,5 \times 10^{-4}$	6	$\bar{x}$	- 3,40	24,73	52,29	65,43	59,65
		SE	2,93	5,30	11,68	13,10	14,55
$1,3 \times 10^{-4}$	7	$\bar{x}$	0,36	27,76	41,35	50,62	55,70
		SE	11,63	10,13	10,14	9,88	9,88
$6,5 \times 10^{-5}$	6	$\bar{x}$	- 2,93	45,43	73,25	77,22	68,54
		SE	13,29	19,14	27,32	30,16	22,93
$1,3 \times 10^{-5}$	5	$\bar{x}$	-18,42	0,38	16,52	24,34	32,38
		SE	6,41	5,88	4,33	4,43	5,45
Kontrolle	12	$\bar{x}$	-17,22	14,48	30,85	37,59	36,88
		SE	8,15	8,76	9,95	9,26	9,94

Obwohl die niedrigste Troxerutin-Konzentration am schlechtesten abschnitt, kann nicht daraus gefolgert werden, daß eine lineare Abhängigkeit zwischen Konzentration und Kontraktionskraftsteigerung in den Versuchen erkennbar geworden wäre. Die höchste Konzentration von $1,3 \times 10^{-3}$ M zeigt (abgesehen von der ersten Messung)

nämlich schlechtere Werte als die zweitniedrigste. Die Versuche mit $6,5 \times 10^{-5}$ M Troxerutin schnitten insgesamt am besten ab, wenngleich die Streuung der Mittelwerte hier auch am stärksten war. Die Konzentration von $1,3 \times 10^{-3}$ M erzielte das zweitbeste Ergebnis und wurde nur bei der Messung nach 65 Minuten von den Organen, die mit $6,5 \times 10^{-4}$ M Troxerutin inkubiert wurden, geringfügig überboten.

3.4.2 Ergebnisse der Versuche mit DHE

Es wurden einige Versuche mit DHE allein durchgeführt, um seine Eigenwirkung auf die geschädigten Organe festzustellen. DHE wurde in Konzentrationen von 1×10^{-8} M, 1×10^{-7} M, 1×10^{-6} M, 1×10^{-5} M und 1×10^{-4} M angewandt.

Es kann festgestellt werden, daß DHE die Kontraktilität der geschädigten Muskelpräparate positiv beeinflusste. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 und Abbildung 5 zusammengefaßt.

Bei der ersten Messung nach fünf Minuten liegen die Prozentwerte in allen Fällen über denen der Kontrolle. Mit Ausnahme der Organe, die eine DHE-Konzentration von 10^{-6} M in der Nährlösung aufwiesen (die insgesamt das schlechteste Ergebnis zeigte), erholten sich alle sehr viel rascher als die unbehandelten Organe.

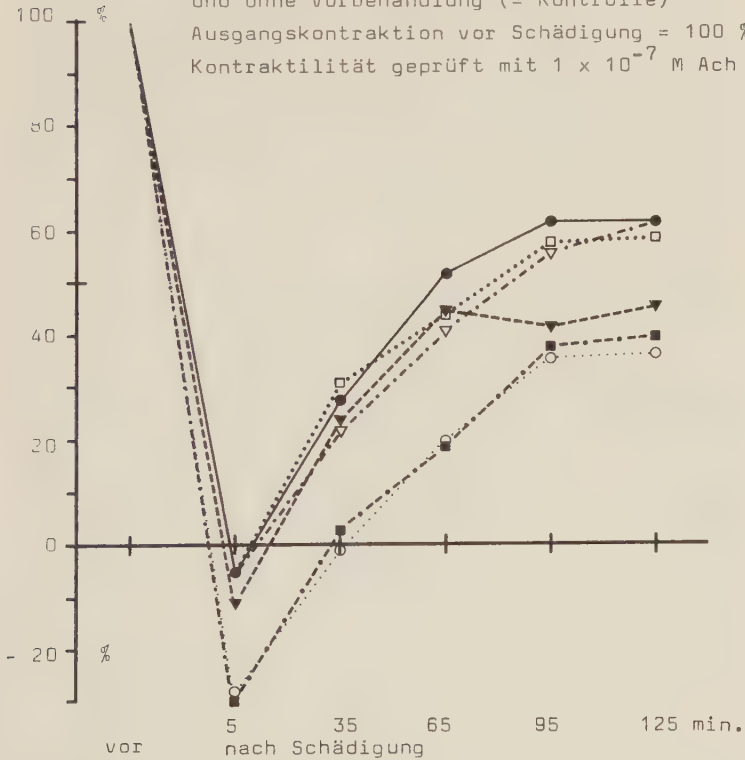
Bei der zweiten und dritten Acetylcholin-Applikation kontrahierten sie sich gegenüber der Ausgangskontraktion um 20 - 30 % stärker als die Kontrollgruppe. Bei der Konzentration von 10^{-5} M erfolgte danach keine Steigerung der Kontraktionskraft mehr, wenn auch der Unterschied zur Kontrollgruppe erhalten blieb.

Tabelle 2: Einfluß von DHE auf die Schädigung durch
 Polidocanol 0,0015 %
 Kontraktilität geprüft durch Ach 1×10^{-7} M
 Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
 n = Anzahl Versuche
 $\bar{x}$ = Mittelwerte in % der Ausgangskontraktion
 SE = standard error

DHE- Molarität	n	Minuten nach beendeter Schädigung				
		5	35	65	95	125
1×10^{-4}	4	$\bar{x}$ - 5,19	31,21	44,50	58,40	59,42
		SE 3,83	5,66	8,61	4,21	12,22
1×10^{-5}	5	$\bar{x}$ -11,80	24,44	44,95	42,69	46,66
		SE 5,38	8,09	10,89	6,26	3,35
1×10^{-6}	6	$\bar{x}$ -28,39	- 1,68	19,55	35,83	36,70
		SE 15,37	15,27	12,96	11,85	11,67
1×10^{-7}	5	$\bar{x}$ - 5,12	21,98	41,06	56,94	61,74
		SE 6,96	5,59	6,71	10,59	11,50
1×10^{-8}	5	$\bar{x}$ - 5,47	28,25	52,54	62,49	61,66
		SE 2,22	3,96	9,15	12,36	13,86
Kontrolle	7	$\bar{x}$ -30,49	2,80	19,37	37,83	40,08
		SE 11,94	12,99	15,25	17,57	19,51

Vier der fünf Verumgruppen zeigten auch bei der letzten Messung noch eine Zunahme der Kontraktilität gegenüber der vorletzten, wobei die Werte von 10^{-7} M und 10^{-8} M gleich gut sind. Die Versuche mit einer Konzentration von 10^{-8} M ergaben nach 65 und 95 Minuten die besten Ergebnisse, gefolgt von 10^{-4} M und 10^{-7} M.

Abbildung 5: Vergleich der Kontraktilität von isolierten Darmabschnitten nach Schädigung mit 0,0015 % Polidocanol bei Vorbehandlung mit DHE und ohne Vorbehandlung (= Kontrolle) Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 % Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-7} M Ach



Legende:

DHE 1×10^{-4} M	□.....	n = 4
1×10^{-5} M	-----▼-----	n = 5
1×10^{-6} M	○.....	n = 6
1×10^{-7} M	▽.....	n = 5
1×10^{-8} M	●.....	n = 5
Kontrolle	-----■-----	n = 7

3.4.3 Ergebnisse der Versuche mit Troxerutin und DHE in Kombination

Von den je fünf mit Troxerutin und DHE getesteten Konzentrationen wurden jeweils die mittleren drei miteinander kombiniert, so daß neun Kombinationen von Troxerutin- und DHE-Konzentrationen in die Versuche gelangten (siehe Tabelle 3). Es wurde insgesamt eine wesentlich höhere Anzahl von Versuchen durchgeführt als bei den einzelnen Substanzen, da sie das Hauptinteresse der Untersuchung darstellten.

Gegenüber allen insgesamt gelaufenen Kontrollversuchen zeigten die Organe, die mit Troxerutin und DHE in Kombination vorbehandelt wurden, stärkere Kontraktionen, das heißt eine deutliche Hemmung der Polidocanolwirkung. Das beste Ergebnis wurde von der Kombination Troxerutin $6,5 \times 10^{-5}$ M und DHE 1×10^{-5} M erzielt, aber auch die Kombination Troxerutin $6,5 \times 10^{-4}$ und DHE 10^{-6} M zeigte gute Ergebnisse. Nach 95 Minuten lagen sie beide in gleicher Höhe, nämlich bei 72 % der Ausgangskontraktion. Am Ende wurden bei der erstgenannten 84 % gemessen gegenüber 56 % bei allen Kontrollgruppen.

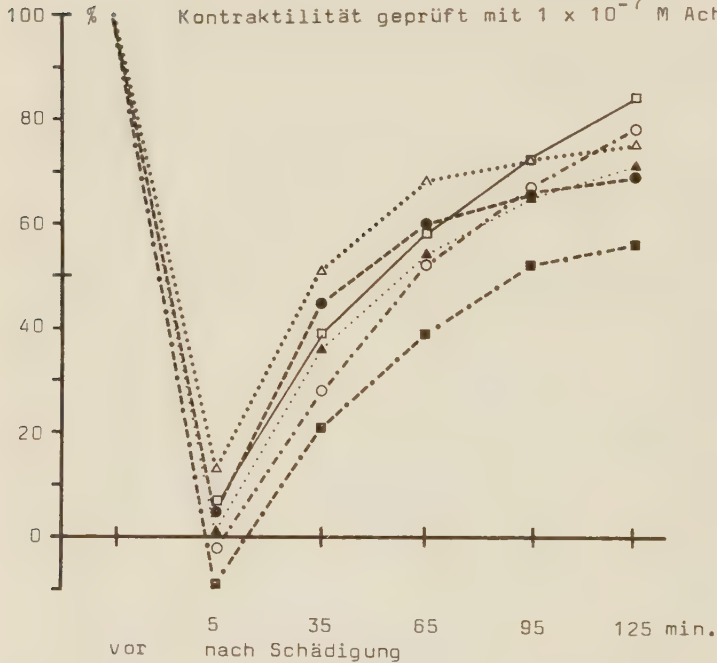
Die einzelnen Prozentwerte sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Zur grafischen Darstellung sind fünf der neun Kombinationskonzentrationen ausgewählt worden. Alle anderen Werte liegen unterhalb der in Abbildung 6 dargestellten. (Geringfügig höhere Kontraktionen ergaben sich lediglich zum Teil noch bei der ersten und zweiten Messung - siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Einfluß von Troxerutin und DHE auf die Schädigung durch Polidocanol 0,0015 %
 Kontraktilität geprüft durch 1×10^{-7} M Acetylcholin
 Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
 n = Anzahl Versuche $\bar{x}$ = Mittelwerte in % SE = standard error

Molarität Troxer. + DHE	n	nach 5	35	65	95	125 min.
		$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
		SE	SE	SE	SE	SE
$6,5 \times 10^{-4} + 10^{-5}$	8	4,94 (2,67)	44,64 (7,27)	60,71 (5,26)	66,34 (5,59)	69,63 (4,92)
$6,5 \times 10^{-4} + 10^{-6}$	9	13,03 (4,72)	51,40 (7,78)	67,99 (7,88)	72,58 (5,97)	75,35 (5,80)
$6,5 \times 10^{-4} + 10^{-7}$	9	- 0,48 (3,73)	30,09 (6,66)	51,57 (8,98)	58,84 (8,37)	61,76 (6,67)
$1,3 \times 10^{-4} + 10^{-5}$	9	- 2,57 (4,85)	27,61 (7,51)	50,21 (7,72)	59,87 (7,16)	68,34 (6,80)
$1,3 \times 10^{-4} + 10^{-6}$	9	1,41 (5,61)	36,42 (5,25)	54,41 (5,77)	64,88 (4,32)	71,20 (5,75)
$1,3 \times 10^{-4} + 10^{-7}$	9	- 3,56 (4,39)	31,23 (5,49)	46,58 (6,27)	57,86 (9,04)	61,13 (10,10)
$6,5 \times 10^{-5} + 10^{-5}$	8	7,31 (5,55)	39,31 (7,83)	57,92 (7,80)	72,39 (9,09)	84,06 (15,06)
$6,5 \times 10^{-5} + 10^{-6}$	8	- 1,98 (2,40)	28,14 (5,29)	51,89 (7,98)	67,06 (7,06)	77,99 (7,93)
$6,5 \times 10^{-5} + 10^{-7}$	8	1,06 (4,66)	27,77 (7,15)	42,77 (5,44)	55,14 (7,76)	66,32 (8,55)
Kontrolle	25	- 9,47 (4,57)	21,39 (5,26)	39,65 (6,14)	51,98 (6,62)	56,10 (7,30)

Abbildung 6: Vergleich der Kontraktilität von isolierten Darmabschnitten nach Schädigung mit 0,0015 % Polidocanol bei Vorbehandlung mit Troxerutin und DHE in angegebenen Konzentrationen und ohne Vorbehandlung (= Kontrolle)
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %
Kontraktilität geprüft mit 1×10^{-7} M Ach



Legende: Trox $6,5 \times 10^{-4}$ + DHE 10^{-5} M ---●--- n = 7
 Trox $6,5 \times 10^{-4}$ + DHE 10^{-6} M△..... n = 8
 Trox $1,3 \times 10^{-4}$ + DHE 10^{-6} M▲..... n = 9
 Trox $6,5 \times 10^{-5}$ + DHE 10^{-5} M —□— n = 8
 Trox $6,5 \times 10^{-6}$ + DHE 10^{-6} M -○- n = 8
 Kontrolle -■- n = 25

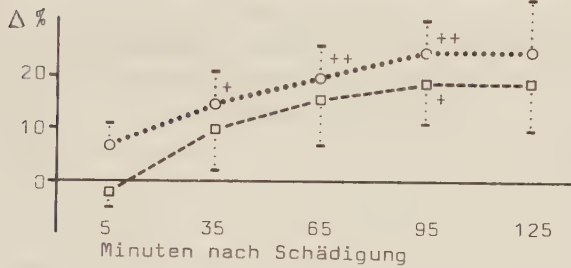
Nachdem die einzelnen Ergebnisse teilweise recht unterschiedlich waren und die Mittelwerte demzufolge häufig stark streuen, wurde versucht, mit dem gepaarten t-Test zu exakteren Aussagen zu kommen. Konkret wurden die vergleichbaren Werte des jeweiligen Kontrollversuches eines Darmes (eines Versuchstieres) gemittelt und von den gemittelten Werten der einzelnen Verumversuche abgezogen. Daraus ergaben sich $\Delta\%$ -Werte, die dann gemittelt wurden. Die so errechneten Mittelwerte sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Aus der Tabelle 4 ist zu ersehen, daß die besten Ergebnisse von der Kombination Troxerutin $6,5 \times 10^{-5}$ M und DHE 1×10^{-5} M erbracht wurden, dicht gefolgt von der gleichen Troxerutin-Kombination mit DHE 1×10^{-6} M. Die Unterschiede zur Kontrollgruppe sind signifikant. Um dieses Ergebnis zu verdeutlichen, sind diese beiden Kombinationen in Abbildung 7 grafisch dargestellt. Die Nulllinie entspricht hierbei der Kontrolle. Werte über Null bedeuten, daß die Kontraktionen der behandelten Organe stärker ausgefallen sind als die der unbehandelten Darmabschnitte.

Tabelle 4: Einfluß von Troxerutin und DHE auf die Schädigung durch $0,0015\%$ Polidocanol. Kontraktivität geprüft durch 1×10^{-7} M Acetylcholin
 $\bar{x}$ = Mittelwert der nach dem gepaarten t-Test errechneten $\Delta\%$ -Werte
n = Anzahl Versuche
SE = standard error

Molarität Troxerutin + DHE	n	nach 5		35		65		95		125 min.	
		$\bar{x}$	SE	$\bar{x}$	SE	$\bar{x}$	SE	$\bar{x}$	SE	$\bar{x}$	SE
$6,5 \times 10^{-4} + 10^{-5}$	7	0,9 (2,4)		9,9 (10,6)		7,3 (13,9)		3,5 (17,5)		1,6 (15,5)	
$6,5 \times 10^{-4} + 10^{-6}$	8	8,3 (4,5)		15,5 (12,6)		12,3 (13,6)		6,9 (12,5)		6,2 (11,2)	
$6,5 \times 10^{-4} + 10^{-7}$	8	8,4 (3,5)		4,0 (5,9)		4,7 (6,5)		7,7 (10,9)		8,7 (9,9)	
$1,3 \times 10^{-4} + 10^{-5}$	9	4,1 (5,4)		4,3 (10,3)		2,0 (13,0)		2,0 (11,6)		6,7 (10,1)	
$1,3 \times 10^{-4} + 10^{-6}$	9	0,1 (8,0)		4,5 (9,7)		6,2 (12,1)		2,9 (13,2)		3,9 (15,7)	
$1,3 \times 10^{-4} + 10^{-7}$	9	5,1 (4,2)		0,7 (7,4)		1,5 (10,4)		4,0 (14,1)		7,9 (16,4)	
$6,5 \times 10^{-5} + 10^{-5}$	8	7,2 (4,3)		14,7 (6,5)		20,3 (6,1)		24,7 (6,8)		24,7 (14,9)	
$6,5 \times 10^{-5} + 10^{-6}$	8	2,0 (3,1)		10,2 (7,9)		15,5 (9,1)		19,4 (8,4)		18,6 (9,8)	
$6,5 \times 10^{-5} + 10^{-7}$	8	1,0 (7,3)		4,3 (11,5)		6,4 (9,5)		7,5 (9,2)		7,0 (10,2)	

Abbildung 7: Kontraktilität von isolierten Darmabschnitten nach Schädigung mit Polidocanol 0,0015 % bei Vorbehandlung mit Troxerutin und DHE im Vergleich zur Kontrolle
Mittelwerte nach gepaartem t-Test



Legende:

Trox 6,5x10⁻⁵ M + DHE 10⁻⁵○..... n = 8

Trox 6,5x10⁻⁵ M + DHE 10⁻⁶□..... n = 8

+ = p < 0,05

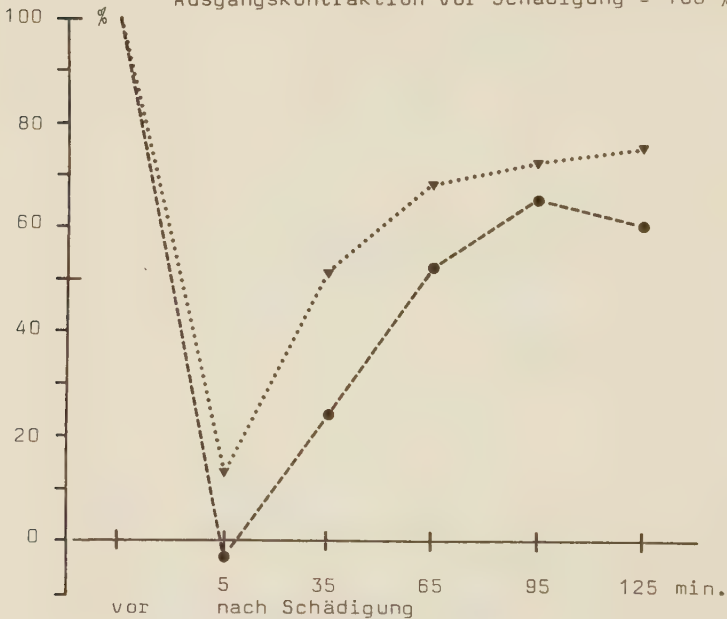
++ = p < 0,01

3.5 Vergleich der Ergebnisse Troxerutin einzeln und in Kombination mit DHE

Nachdem es Aufgabe der Untersuchung war, den Einfluß von DHE auf die Schutzwirkung von Troxerutin festzustellen, soll hierüber genauer berichtet werden.

Es wird festgestellt, daß bei den Troxerutin-Konzentrationen $1,3 \times 10^{-4}$ M und $6,5 \times 10^{-4}$ M die jeweiligen DHE-Kombinationen besser abschneiden. Die Unterschiede sind besonders deutlich bei der zweiten Messung von $6,5 \times 10^{-4}$. Die Kurve von Troxerutin $6,5 \times 10^{-5}$ M allein liegt jedoch in der Zeit 35 bis 95 Minuten nach Schädigung über den Kurven der drei Kombinationen mit DHE.

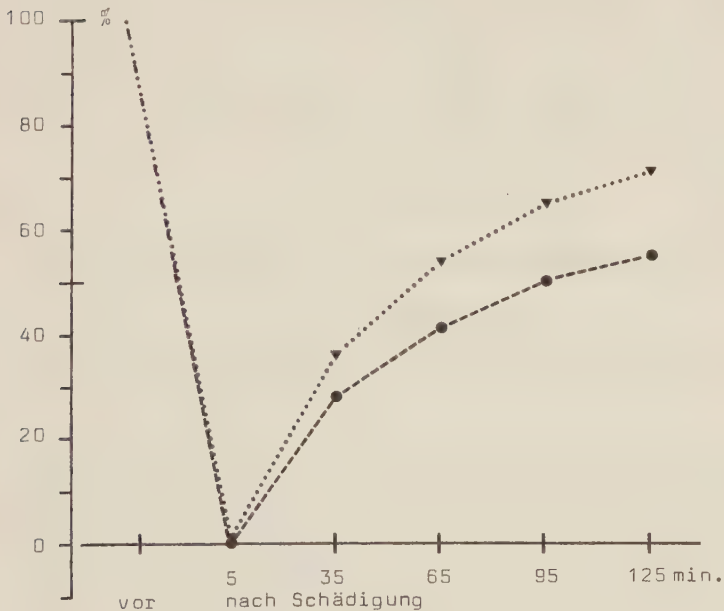
Abbildung 8: Vergleich zwischen Troxerutin $6,5 \times 10^{-4}$ M allein und zusammen mit DHE 1×10^{-6} M
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %



Legende: Trox $6,5 \times 10^{-4}$ M + DHE 1×10^{-6} M▼..... n = 8
Trox $6,5 \times 10^{-4}$ M●..... n = 6

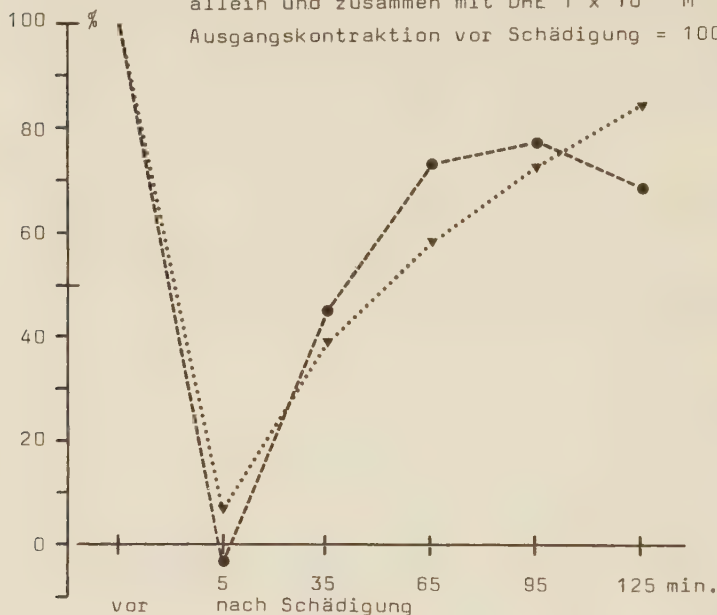
Für die vergleichende Betrachtung der Kurven Troxerutin allein und Troxerutin in Kombination mit DHE sind diejenigen der jeweils drei Konzentrationskonzentrationen ausgewählt worden, die das beste Ergebnis zeigten. Sie sind in Abbildung 8, 9 und 10 dargestellt.

Abbildung 9: Vergleich zwischen Troxerutin $1,3 \times 10^{-4}$ M allein und zusammen mit DHE 1×10^{-6} M
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %



Legende: Trox $1,3 \times 10^{-4}$ M + DHE 10^{-6} M▼..... n = 9
Trox $1,3 \times 10^{-4}$ M●..... n = 7

Abbildung 10: Vergleich zwischen Troxerutin $6,5 \times 10^{-5}$ M allein und zusammen mit DHE 1×10^{-5} M
Ausgangskontraktion vor Schädigung = 100 %



Legende: Trox $6,5 \times 10^{-5}$ M + DHE 10^{-5} M▼..... n = 8
Trox $6,5 \times 10^{-5}$ M●..... n = 6

Betrachtet man die Eigenwirkung von DHE allein, so fällt auf, daß sie in jedem Fall unterhalb der Wirkung von Troxerutin allein als auch der Kombinationswirkung liegt. (Deswegen wird auf die grafische Darstellung dieser Kurven innerhalb dieser Abbildungen verzichtet.)

Wie aus Abbildung 5 zu ersehen ist, zeigen die mit DHE vorbehandelten Organe jedoch im Vergleich zu den gleichzeitig durchgeführten Kontrollversuchen eine deutliche Hemmung der Polidocanol-Wirkung.

4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Bei Betrachtung der Ergebnisse ist der zum Teil recht hohe standard error zu berücksichtigen. Für die Streuung der Mittelwerte kommen folgende Ursachen in Betracht:

- Das Reaktionsverhalten der einzelnen Tiere bzw. der untersuchten Därme insgesamt.
- Das Reaktionsverhalten der einzelnen Darmabschnitte. (Um die Tiere voll auszunutzen, wurde nicht nur immer ein bestimmter Abschnitt des Ileums genommen. Innerhalb einer Versuchsreihe war es deshalb nicht ausgeschlossen, daß einmal mit einem proximalen Anteil und das nächste Mal mit einem distalen gearbeitet wurde.)
- Die relativ hohe Zahl von Variablen.
- Die relativ geringe Anzahl von untersuchten Versuchstieren.

Trotzdem lassen sich auch unter diesen Einschränkungen eindeutige Aussagen treffen:

Alle vorbehandelten Organe zeigten gegenüber der Kontrollgruppe eine höhere Kontraktilität. Sie erholten sich unter den genannten protektiven Substanzen rascher und besser nach der Schädigung als die unbehandelten Darmabschnitte.

Troxerutin ist in der Lage, die schädigende Wirkung von Polidocanol an der glatten Darmmuskulatur zu hemmen. Am wirkungsvollsten zeigte sich in der vorliegenden Versuchsreihe die Troxerutin-Konzentration von $6,5 \times 10^{-5} \text{ M}$,

und zwar sowohl als allein einwirkende protektive Substanz als auch bei Verwendung zusammen mit DHE.

DHE beeinflusste die schützende Wirkung von Troxerutin positiv. Die Muskelpräparate kontrahierten sich noch stärker, wenn der Troxerutin-Lösung noch DHE hinzugefügt wurde. Die mit dem gepaarten t-Test ermittelten Resultate zeigten signifikante Unterschiede zur Kontrolle bei der Kombination Troxerutin $6,5 \times 10^{-5}$ M und DHE 1×10^{-5} M, in geringerem Maße auch bei der gleichen Troxerutin-Kombination mit DHE 1×10^{-6} M.

DHE verstärkte also die protektive Wirkung von Troxerutin gegenüber Polidocanol an der glatten Darmmuskulatur. Darüberhinaus entfaltete es eine hemmende Eigenwirkung auf die Schädigung.

In keiner der drei durchgeführten Versuchsreihen konnte eine lineare Dosis-Wirkungsbeziehung gefunden werden. Es gibt auch kein Wirkungsoptimum in dem Sinne, daß sowohl höhere als auch niedrigere Konzentrationen abnehmend unwirksamer wären. EICHLER (1981) fand dieses Wirkungsoptimum zwischen 0,5 und 0,1 % HR sowohl bei protektiver als auch kurativer Anwendung. Bei unseren Versuchen liegt die optimale Wirkung bei 0,005 % ($= 6,5 \times 10^{-5}$ M) Troxerutin. Die nächstniedrigere Konzentration wirkte am schwächsten. Jedoch erreichte die nächsthöhere Konzentration (0,01 %) nicht die Wirkung von 0,1 und 0,05 % ($1,3 \times 10^{-3}$ und $6,5 \times 10^{-4}$ M), so daß man nicht von einem Wirkungsoptimum sprechen kann.

Die Annahme, daß der Zusatz von DHE in die Troxerutin-Lösung zu einer Linksverschiebung der Dosis-Wirkungskurve führt, könnte mit der vorliegenden Untersuchung

nicht erhärtet werden. Auch in der Kombination mit DHE lag die Konzentration von $6,5 \times 10^{-5}$ M Troxerutin am günstigsten.

Die Beobachtung der meisten von BÖHM (1967) zitierten Autoren, daß die Flavonoide am Darm spasmolytisch wirken, kann in unserem Modell nicht bestätigt werden. Auch EICHLER (1981) fand keinen direkten Einfluß auf die durch Acetylcholin hervorgerufenen Kontraktionen; der Einfluß bezieht sich allein auf die Hemmung der Schädigung.

Das gleiche gilt für DHE. SCHUSTER (1978) hat in seinen Untersuchungen am isolierten Meerschweinchenileum gefunden, daß Dihydroergotamin hemmend auf durch Acetylcholin hervorgerufene Kontraktionen wirkt. Diese Wirkung kommt über sympathische Rezeptoren zustande, nachdem DHE nicht an Rezeptoren für Acetylcholin angreift (MÜLLER-SCHWEINITZER und WEIDMANN, 1978). In unserem Fall wirkten allerdings DHE und Ach nie gleichzeitig auf die isolierten Darmabschnitte ein. DHE war vor den einzelnen Ach-Zugaben immer ausgespült worden, so daß hier keine direkte Interaktion stattfinden konnte. Der Einfluß von DHE bezog sich hier auf eine Hemmung der Schädigung. DHE, das in jedem Fall vor der Zugabe von Polidocanol auf die glatte Muskulatur einwirkte und während der Einwirkung der schädigenden Substanz im Organbad verblieb, entfaltete hier seine Wirkung, die sich später in der Höhe der Kontraktionskurven ausdrückte.

Das bedeutet, daß DHE über seine bekannten vasoaktiven Eigenschaften hinaus, zumindest in vorliegendem Modell, einen protektiven Effekt entwickelt. Welcher Mechanismus für diesen Befund verantwortlich ist, muß hier ungeklärt bleiben.

Über den Wirkungsmechanismus der Hydroxyaethylrutoside können ebenfalls nur Vermutungen angestellt werden. Es ist sogar unklar, ob die Flavonoide selbst oder deren Metabolite die wirksamste Substanz darstellen (BÖHM, 1967). Untersuchungen der ultrastrukturellen Veränderungen der terminalen Strombahn (HAMMERSEN, 1978) scheinen die Annahme zu stützen, daß die Wirksamkeit von HR "letztlich auf einem allgemeinen protektiven Membraneffekt" beruht.

FRITZ-NIGGLI (1978) bestätigt in ihrem vorläufigen Bericht über die Wirkung von Rutosiden auf Strahlenschäden in malignen und normalen Zellen, daß Rutoside membrangebundene Enzymsysteme und Zellbestandteile schützen und einen positiven Einfluß auf den membrangebundenen Energiestoffwechsel in Mitochondrien von gesunden Zellen besitzen. "Bioflavonoide fördern alle Stoffwechselvorgänge, die membrangebunden sind und greifen in die unmittelbaren Erholungsvorgänge ein." (6)

Verschiedene Stoffwechselwirkungen, die auf der Fähigkeit der Flavonoide Chelate zu bilden und als Redoxsystem zu wirken beruhen, sind lange bekannt. So gilt es als bewiesen, daß sie Adrenalin und Ascorbinsäure vor Oxydation schützen (BÖHM, 1967; GÁBOR, E., 1978).

Vor allem an Ödemmodellen ist die protektive Wirkung von Hydroxyaethylrutosiden schon vielfach bestätigt worden.

Von FELIX (1978) durchgeführte Untersuchungen am strömungskonstant perfundierten Hinterlauf der Katze, in dem die Kapillarpermeabilität durch intravasale Applikation von Polidocanol und Thiopental erhöht wurde, fanden eine protektiv antiödematöse Wirkung des HR.

GÁBOR und BLASZSÓ (1978) berichten über die ödemhemmende Wirkung von HR am durch Carrageenin und Prostaglandin E_1 hervorgerufenen Rattenpfotenödem. NORDMANN et al. (1978) untersuchte das venöse Stauungsödem im Rattenschwanz. Volumetrisch wurde eine günstige Wirkung von HR auf die provozierten Ödeme festgestellt. HAMMERSEN (1978) überprüfte am Modell des Dextran- und Phospholipase-Ödems den gefäßschützenden Effekt von HR mit Hilfe von histologischen Strukturanalysen. Seine morphologischen Befunde belegen eine deutliche Hemmung verschiedener Ödemformen durch HR.

BIESENDORFER et al. (1980) untersuchten die Wirkung von HR auf durch verschiedene oberflächenaktive Substanzen hämolysierte Erythrozyten. Die Wirkung von Polidocanol, das in einer Konzentration von 0,0054 % eine fünfzigprozentige Hämolysen verursachte, konnte durch HR kompetitiv und dosisabhängig aufgehoben werden. Es wurde angenommen, daß entweder eine "unspezifische hydrophobe Interaktion" zwischen HR und Polidocanol stattfinden konnte oder daß Polidocanol und HR um eine Bindung an die Zellmembran konkurrieren (2).

EICHLER (1981) hat an isolierten Pfortadern von Ratten eine hemmende Wirkung des HR auf die Schädigung durch Polidocanol gefunden.

Die Vielfalt der toxischen Substanzen, die zu einer Schädigung der unterschiedlichsten Zellen, nämlich Kapillarendothel, Erythrozyten, glatter Gefäßmuskulatur, geführt haben, lassen darauf schließen, daß die durch HR bewirkte Hemmung der Schädigung durch eine allgemeine unspezifische Schutzwirkung zustande kommt.

Unsere Befunde bestätigen diese Unspezifität der Schutzwirkung der Hydroxyäthylrutoside. Die Wirkung entfaltet sich sowohl gegenüber der schädigenden Substanz, hier Polidocanol, als auch gegenüber der morphologischen Struktur, hier glatte Muskulatur des Meerschweinchenileums.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit untersucht die Frage der Unspezifität der Schutzwirkung von Troxerutin als Vertreter der O-(β -Hydroxyäthyl)-rutoside einerseits und des Einflusses von Dihydroergotamin auf diese Schutzwirkung andererseits.

Die protektive Wirkung von Troxerutin wurde an einem bisher noch nicht berichteten Modell, nämlich an glatter Darmmuskulatur, geprüft. Es wurden in vitro-Experimente mit isolierten Meerschweinchendärmen durchgeführt, deren Reaktionen auf die protektiven und schädigenden Pharmaka an der Stärke der durch Acetylcholin provozierten Kontraktionen gemessen wurden.

Die Erwartungen haben sich bestätigt, daß der protektive Effekt von Troxerutin nicht nur gegenüber der schädigenden Substanz, sondern auch gegenüber der zu schützenden Struktur wirksam ist und somit allgemein und unspezifisch ist. Die untersuchten Darmabschnitte regenerierten schneller bei Vorbehandlung und zeigten stärkere Kontraktionen nach Schädigung als die unbehandelten Kontrollgruppen.

Sowohl Troxerutin als auch DHE waren in der Lage, die durch Polidocanol verursachte Schädigung deutlich zu hemmen. Unter dem Einfluß von DHE konnte Troxerutin seine protektive Wirkung sogar noch verstärken.

6. LITERATUR

- (1) Berde, B., H.O. Schild (Hrsg.):
 Ergot Alkaloids and Related Compounds.
 Handbook of Experimental Pharmacology 49,
 Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg,
 New York 1978

- (2) Biesendorfer, H., D. Wildenauer, W. Felix:
 Protective effect of O-(β -Hydroxyethyl)-
 rutosides (HR) against the hemolytic
 action of various surface-active sub-
 stances in vitro.
 Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.
 311, Suppl., 73 (1980)

- (3) Böhm, Kurt: Die Flavonoide. Eine Übersicht über
 ihre Physiologie, Pharmakodynamik und
 therapeutische Verwendung.
 Editio Cantor AG, Aulendorf/Württ. 1967

- (4) Eichler, Pavol: Zur Wirkung von HR auf die durch
 Polidocanol und Etacrynsäure geschädig-
 ten isolierten Pfortadern und Aorten
 der Ratte.
 Dissertation, München 1981

- (5) Felix, Wolfgang: Zur Wirkung von O-(β -Hydroxyethyl)-
 rutosiden auf die Ödembildung durch
 Ethoxysklerol und Thiopental am Hinter-
 lauf der Katze.
 in: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.):
 a.a.O. (S. 93 - 102)

- (6) Fritz-Niggli, Hedi: Rutoside und strahleninduzierte Tumorrogression: Differenzierte Reaktionen maligner und gesunder Zellen.
in: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.):
a.a.O. (S. 169 - 180)
- (7) Gábor, Elisabeth: Antioxidative Wirkung der Flavonoide bei der Ascorbinsäureoxidation.
in: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.):
a.a.O. (S. 25 - 30)
- (8) Gábor, M., G. Blazsó: Effekt von Rutosiden auf das Rattenpfoten-Ödem.
in: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.):
a.a.O. (S. 73 - 78)
- (9) Hammersen, Frithjof: Zur Ultrastruktur experimenteller Ödeme und deren Beeinflussung durch O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside.
in: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.):
a.a.O. (S. 103 - 120)
- (10) Kromer, W., Scheiblhuber, E., Illes, P.:
Functional Antagonism by Calcium of
an Intrinsic Opioid Mechanism in the
Guinea-pig Isolated Ileum.
Neuropharmacology 19, 839 - 843 (1980)
- (11) Manz, Matthias: Wirkung von Dihydroergotamin auf Venen und Arterien im Hinterlauf der Katze in Chloralosenarkose.
Dissertation, München 1981
- (12) Mellander, S., J. Nordenfelt: Comparative Effects of Dihydroergotamine and Noradrenaline on Resistance, Exchange and Capacitance Functions in the Peripheral Circulation.
Clinical Science 39, 183 - 201 (1970)

- (13) Müller-Schweinitzer, E., H. Weidmann:
Basic Pharmacological Properties.
in: B. Berde, H.O. Schild (Hrsg.):
a.a.O. (S. 87 - 232)
- (14) Schuster, Josef: Spasmolytische Wirkung von Nor-
adrenalin, Dihydroergotamin, Isoprenalin,
Pindolol und Dopamin am isolierten
Meerschweinchenileum.
Dissertation, München 1978
- (15) Voelter, W., G. Jung (Hrsg.):
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside -
experimentelle und klinische Ergebnisse.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg,
New York 1978

L E B E N S L A U F

Evelyn Bingemann geborene Lößner am 17. August 1947
in Bevensen, Kreis Uelzen
Tochter von Ursula und Werner Lößner
verheiratet seit 1969 mit
Dr. med. dent. Hansjörg Bingemann

1953 - 1963 Volksschule in München-Neuaubing und
Riemerschmid-Handelsschule, München,
mit Erwerb der Mittleren Reife

1963 - 1973 Berufstätigkeit als Sekretärin,
zuletzt im Institut für Ausbildungs-
forschung in der Medizin e.V.
in München

27. 6. 1974 Prüfung für die Zulassung zum Hoch-
schulstudium ohne Reifezeugnis
(Begabtenprüfung) am Bayerischen
Staatsministerium für Unterricht und
Kultus

SS 1975 Aufnahme des Zahnmedizin-Studiums
an der Ludwig-Maximilians Universität
München

30. 4. 1976 Naturwissenschaftliche Vorprüfung

25. 4. 1978 Zahnärztliche Vorprüfung

22. 1. 1981 Zahnärztliche Prüfung

29. 1. 1981 Bestallung als Zahnärztin durch das
Bayerische Staatsministerium des
Innern

